

549,311

Rec'd PCT/PTO 16 SEP 2005

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
30. September 2004 (30.09.2004)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2004/083223 A1(51) Internationale Patentklassifikation⁷: C07F 15/00,
A61K 31/282, A61P 35/00

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2004/002850

(22) Internationales Anmeldedatum:
18. März 2004 (18.03.2004)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
103 14 780.2 19. März 2003 (19.03.2003) DE(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): **KTB TUMORFORSCHUNGS GMBH** [DE/DE];
Breisacher Str. 17, 79106 Freiburg (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **KRATZ, Felix**
[DE/DE]; Zum Abtsweingarten 19, 79241 Ihringen (DE).
WARNECKE, André [DE/DE]; August-Ganther-Str. 1,
79117 Freiburg (DE).(74) Anwalt: **WEICKMANN & WEICKMANN**; Postfach
860 820, 81635 München (DE).(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,
AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,
CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES,
FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE,
KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD,
MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG,
PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM,
TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM,
ZW.(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW,
GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK,
EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT,
RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA,
GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Ab-
kürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Co-
des and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der
PCT-Gazette verwiesen.(54) Title: PROTEIN-BOUND DERIVATIVES OF PLATINUM COMPLEXES CONTAINING CYCLOBUTANE 1.1-DICAR-
BOXYLLATE LIGANDS(54) Bezeichnung: PROTEINBINDENDE DERIVATE VON PLATINKOMPLEXEN MIT CYCLOBUTAN-1,1-DICARBOXYL-
ATLIGANDEN(57) Abstract: The invention relates to low-molecular weight platinum complexes comprising cyclobutane 1.1-dicarboxyllate lig-
ands which contain a protein-bound group.(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft niedermolekulare Platinkomplexe mit Cyclobutan-1,1-dicarboxylatliganden, die
eine proteinbindende Gruppe enthalten.

WO 2004/083223 A1

Proteinbindende Derivate von Platinkomplexen mit Cyclobutan-1,1-dicarboxylatliganden

5

Beschreibung

Die Erfindung betrifft niedermolekulare Platinkomplexe von Cyclobutan-1,1-dicarboxylatliganden, die eine proteinbindende Gruppe enthalten, deren Herstellung und Verwendung.

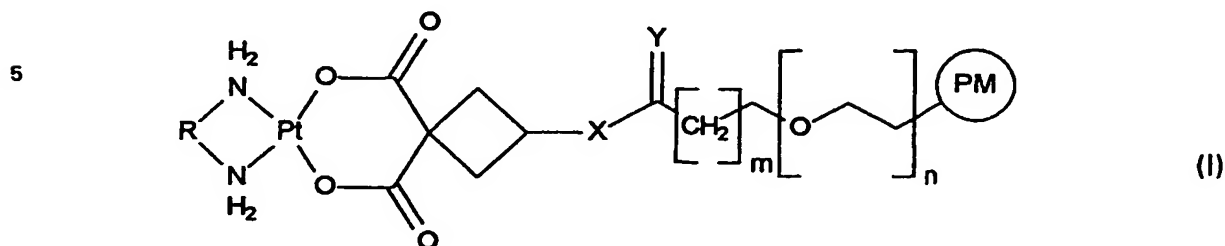
10

Carboplatin (Diamminplatin(II)-cyclobutan-1,1-dicarboxylat) ist ein anti-neoplastisch wirksamer Platin(II)-Komplex, der zur Behandlung verschiedener Krebserkrankungen eingesetzt wird (Woloschuk, D. M. et al., *Drug Intell. Clin. Pharm.* **1988**, 22, 843-849). Von dem strukturell verwandten
15 Cisplatin (*cis*-Diammindichloroplatin(II)) unterscheidet sich Carboplatin durch Austausch der Chloroliganden durch einen chelatisierenden Cyclobutan-1,1-dicarboxylatliganden, woraus eine veränderte Pharmakokinetik sowie ein von Cisplatin abweichendes Toxizitätsprofil resultiert (Lokich, J., *Cancer Invest.* **2001**, 19, 756-760). Jedoch sind Therapien mit Carboplatin
20 von Nebenwirkungen begleitet (Go, R. S. et al., *J Clin. Oncol.* **1999**, 17, 409-422). Es wurde bereits vorgeschlagen, zur Verbesserung des Nebenwirkungsprofils und der Wirksamkeit von Zytostatika proteinbindende Formulierungen zu entwickeln, welche *in vivo* an endogene Serumproteine koppeln und auf diese Weise makromolekulare Transportformen der Wirk-
25 stoffe darstellen (Kratz, F. et al., *Am. Assoc. Cancer Res.* **2001**, 42, 138-139, Kratz, F. et al., *J. Med. Chem.* **2000**, 43, 1253-1256).

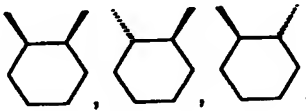
30

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, proteinbindende Derivate von Carboplatin zu schaffen, welche weniger unerwünschte Nebenwirkungen und höhere Wirksamkeit gegenüber Tumorgewebe aufweisen.

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß gelöst durch niedermolekulare Carboplatin-Derivate der allgemeinen Formel I



10

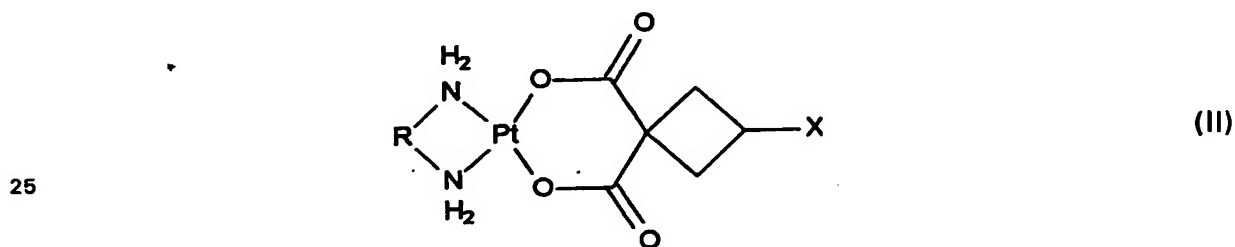
worin R = 2 H, , $-(CH_2)_i-$ (i = 2 oder 3), X = O oder NH, Y = O, S oder 2 H, n = 0 bis 5, m = 0 bis 6 bedeuten und PM eine Proteinbindende Gruppe ist.

15

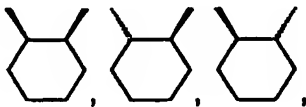
Die erfindungsgemäßen Verbindungen sind aus einem antitumoral wirksamen *cis*-konfigurierten Platin(II)-Komplex und einem heterobifunktionellen Crosslinker aufgebaut. Im Folgenden wird dieser Aufbau näher erläutert:

20

Der antitumoral wirksame Platinkomplex ist ein Wirkstoffderivat der allgemeinen Formel II

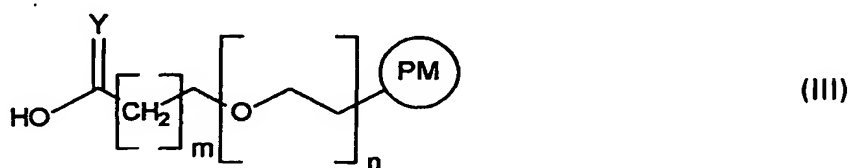


30

worin , $-(CH_2)_i-$ (i = 2 oder 3)
X = OH oder NH₂

bedeuten. Von dem klinischen Standard Carboplatin unterscheidet sich dieser durch das Vorliegen einer Hydroxy- oder Aminogruppe am Cyclobutanring sowie gegebenenfalls durch Vorliegen chelatisierender Aminliganden wie *trans*-1,2-Diaminocyclohexan, *cis*-1,2-Diaminocyclohexan, Ethylen-
 5 diamin oder 1,3-Diaminopropan.

Der heterobifunktionelle Crosslinker ist ein Carbonsäure-Derivat oder ein Alkohol mit einer proteinbindenden Gruppe der allgemeinen Formel III



15 in der

Y = 2 H, O oder S

n = 0 bis 5

m = 0 bis 6

20 PM = Proteinbindende Gruppe
 bedeuten.

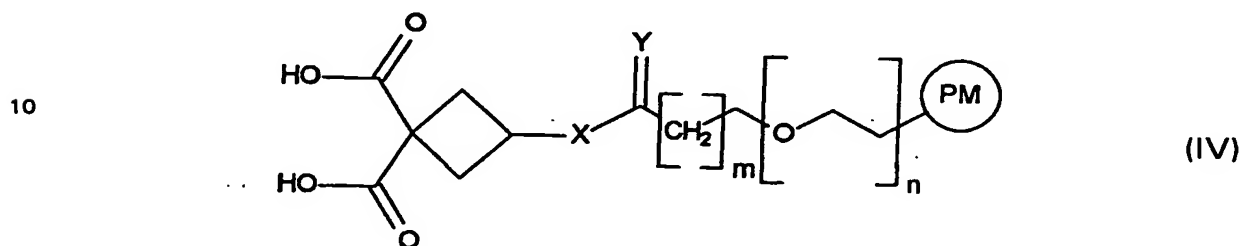
Die proteinbindende Gruppe (PM) ist bevorzugt ausgewählt unter einer 2-Dithiopyridylgruppe, einer Halogenacetamidgruppe, einer Halogenacetat-
 25 gruppe, einer Disulfidgruppe, einer Acrylsäureestergruppe, einer Monoalkylmaleinsäureestergruppe, einer Monoalkylmaleaminsäureamidgruppe, einer *N*-Hydroxysuccinimidylestergruppe, einer Isothiocyanatgruppe, einer Aziridingruppe oder einer Maleinimidgruppe. Eine besonders bevorzugte proteinbindende Gruppe ist die Maleinimidgruppe.

30 Erfindungsgemäße Verbindungen werden formal durch Kondensation des Wirkstoffderivats mit dem Crosslinker erhalten. Zwischen Wirkstoffderivat

- 4 -

und Crosslinker liegt daher eine Esterbindung, eine Amidbindung, eine Thioesterbindung, eine Thioamidbindung, eine Etherbindung oder eine Aminbindung vor.

- 5 Die Herstellung der erfindungsgemäßen Platinkomplexe erfolgt bevorzugt durch Umsetzung eines Cyclobutan-1,1-dicarbonsäure-Derivats der allgemeinen Formel IV



15 in der

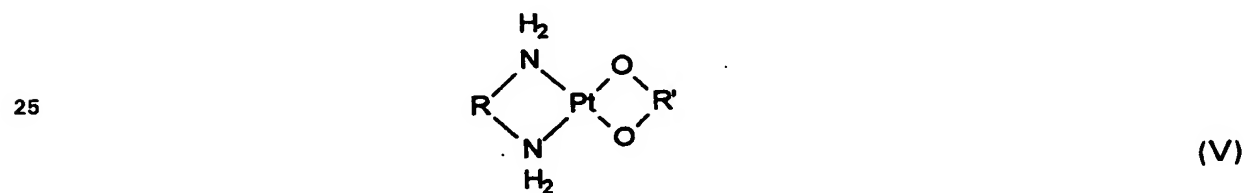
X = O oder NH

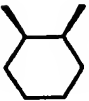
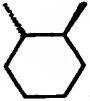
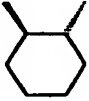
Y = O, S oder 2 H

m = 0 bis 5

n = 0 bis 6

- 20 und PM eine Proteinbindende Gruppe bedeuten, mit einem Platinkomplex der allgemeinen Formel V



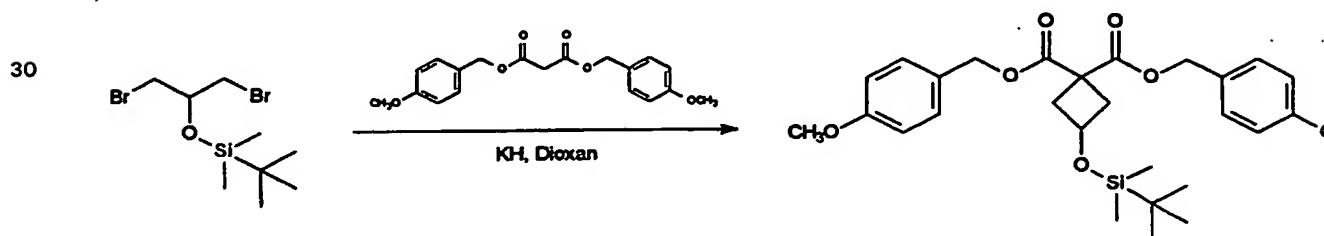
- 30 in der
-
- R = 2 H, , , , $-(CH_2)_i-$ (i = 2 oder 3)
- R' = 2 NO₂, SO₂ oder CO bedeuten.

Zur Umsetzung kann z.B. der Platinkomplex in Wasser gelöst und mit dem Cyclobutan-1,1-dicarbonsäure-Derivat oder einem Alkali- oder Erdalkalimetallsalz des Cyclobutan-1,1-dicarbonsäure-Derivats versetzt werden. Die Umsetzungen werden zweckmäßig bei Temperaturen zwischen 0 °C und 50 °C durchgeführt, wobei die Reaktionszeit normalerweise zwischen 1 und 24 Stunden liegt. Die Produktisolierung kann durch übliche Methoden wie Kristallisation, Chromatographie an Kieselgel oder Reversed-Phase-Chromatographie (präparative HPLC) erfolgen.

Nach einer bevorzugten Ausführungsweise wird eine wässrige Lösung eines *cis*-Diaminoalkylplatin(II)dinitrat-Komplexes oder *cis*-Diamminplatin(II)dinitrat mit einem Cyclobutan-1,1-dicarbonsäure-Derivat, welches eine Maleinimidgruppe und ein Oligo(ethylenglykol)-Rückgrat aufweist, bei einem pH-Wert zwischen 5 und 6 umgesetzt. Die Reinigung der so erhaltenen Platinkomplexe erfolgt vorzugsweise durch Säulenchromatographie an Kieselgel oder durch Reversed-Phase-Chromatographie (siehe Beispiele 5, 6 und 9). Auf diese Weise erhaltene Platinkomplexe weisen eine exzellente Wasserlöslichkeit auf.

Die für die Komplexbildung bevorzugt eingesetzten Cyclobutan-1,1-dicarbonsäure-Derivate mit einer Maleinimidgruppe und einem Oligo(ethylenglykol)-Rückgrat lassen sich in einer vierstufigen Synthese ausgehend von Bis(4-methoxybenzyl)malonat und 1,3-Dibrom-2-*tert.*-butyldimethylsiloxypropan herstellen:

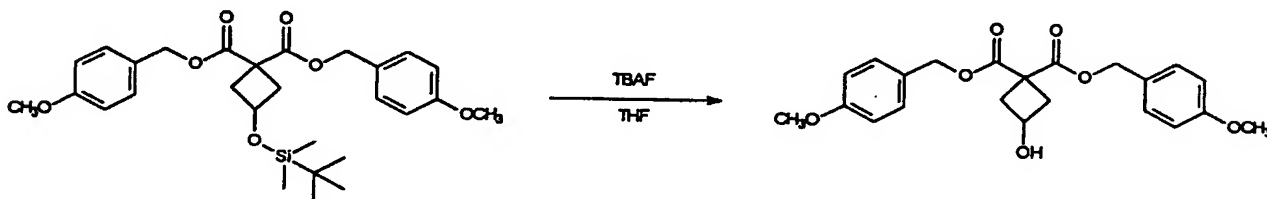
Im ersten Schritt erfolgt eine Dialkylierung von Bis(4-methoxybenzyl)malonat mit 1,3-Dibrom-2-*tert.*-butylsiloxypropan, die zum Cyclobutanringssystem führt.



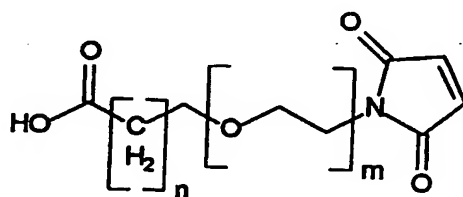
- 6 -

Diese Reaktion wird bevorzugt in einem aprotisch polaren Lösungsmittel wie Dioxan oder DMF unter Benutzung von Basen wie Kaliumhydrid, Natriumhydrid oder Natriumhexamethyldisilazid bei Temperaturen $> 100\text{ }^{\circ}\text{C}$ ausgeführt. Typischerweise beträgt die Reaktionszeit unter diesen Bedingungen 48-120 Stunden (siehe Beispiel 1).

Im zweiten Schritt erfolgt die Abspaltung der *tert.*-Butyldimethylsilyl-Schutzgruppe nach Methoden, die dem Fachmann geläufig sind, bevorzugt unter Einsatz von Tetrabutylammoniumfluorid in Tetrahydrofuran (siehe Beispiel 2).



Im dritten Schritt erfolgt die Veresterung der 3-Hydroxygruppe des Cyclobutanrings von Bis(4-methoxybenzyl)-3-hydroxycyclobutan-1,1-dicarboxylat mit einer Maleinimidocarbonsäure der allgemeinen Formel VIa.



(VIa)

in der

$n = 0$ bis 5

$m = 0$ bis 6

bedeuten.

5

Dabei werden als Reagenzien zur Aktivierung der Carboxylgruppe des Crosslinkers vorzugsweise *N,N'*-Dicyclohexylcarbodiimid, *N,N'*-Diisopropylcarbodiimid, (Benzotriazol-1-yloxy)tris(dimethylamino)phosphonium-Hexafluorophosphat oder 2-Chlor-1-methylpyridiniumiodid unter Zusatz gängiger Katalysatoren bzw. Hilfsbasen wie z.B. Trialkylamine, Pyridin, 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) oder Hydroxybenzotriazol (HOBt) eingesetzt. Die Umsetzung erfolgt zweckmäßig in einem polaren organischen Lösungsmittel, vorzugsweise in Dichlormethan, *N,N*-Dimethylformamid und Tetrahydrofuran. Die Umsetzungen werden zweckmäßig bei Temperaturen zwischen -10 °C bis Raumtemperatur durchgeführt, wobei die Reaktionszeit normalerweise zwischen 3 und 48 Stunden liegt.

10

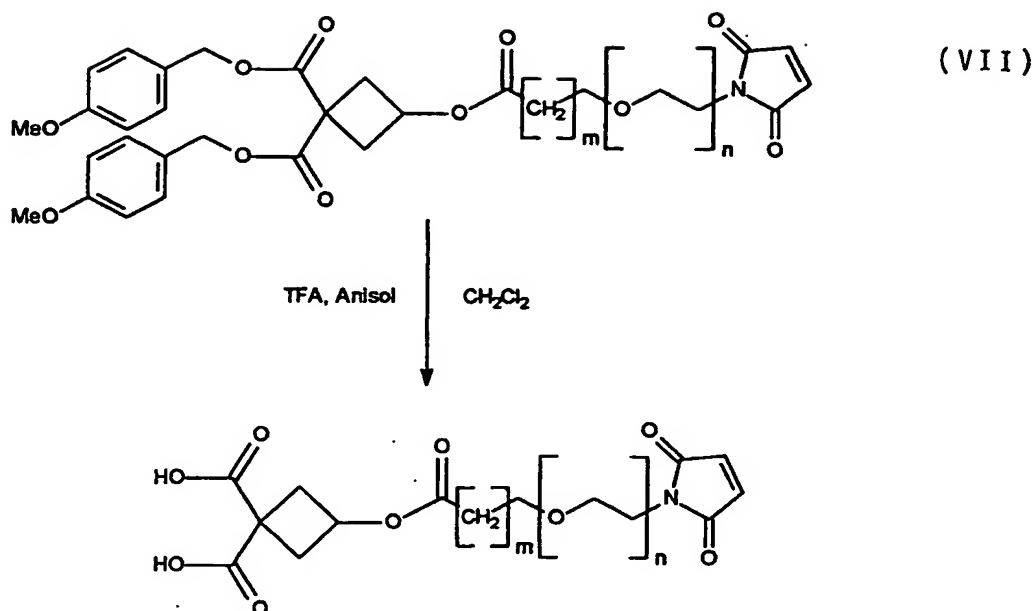
15

Nach einer bevorzugten Ausführungsweise wird Bis(4-methoxybenzyl)-3-hydroxycyclobutan-1,1-dicarboxylat mit einer Maleinimidocarbonsäure, welche ein Oligo(ethylenglykol)-Rückgrat aufweist, unter Einsatz von 2-Chlor-1-methylpyridiniumiodid umgesetzt (siehe Beispiele 3 und 7) unter Bildung einer Verbindung der allgemeinen Formel VII.

20

Im vierten Schritt erfolgt die Abspaltung der 4-Methoxybenzyl-Schutzgruppen mit Trifluoressigsäure und Anisol bei 0°C (siehe Beispiele 4 und 8).

25



Ein wesentliches Merkmal der erfindungsgemäßen Platinkomplexe liegt in einer raschen kovalenten Bindung an Serumproteine über die proteinbindende Gruppe, wodurch eine makromolekulare Transportform des Wirkstoffs generiert wird. Von Serumproteinen wie Transferrin, Albumin und LDL ist eine erhöhte Aufnahme in Tumorgewebe bekannt (Kratz F.; Beyer U. *Drug Delivery* **1998**, 5, 281-299), sodass diese im Rahmen der Erfindung als endogene Träger für Zytostatika herangezogen werden können. Ein besonders bevorzugtes Serumprotein ist zirkulierendes Humanserumalbumin (HSA), das mit einer durchschnittlichen Konzentration von 30 bis 50 g/L die Hauptprotein-Komponente des menschlichen Blutes bildet (Peters T. *Adv. Protein Chem.* **1985**, 37, 161-245) und eine freie Cysteingruppe (Cystein-34-Gruppe) an der Oberfläche des Proteins aufweist, welche zur Anbindung von thiolbindenden Gruppen wie Maleinimiden oder Disulfiden geeignet ist (WO 00/76551).

Die erfindungsgemäßen proteinbindenden Platinkomplexe können als Arzneimittel parenteral, bevorzugt intravenös appliziert werden. Dazu werden die erfindungsgemäßen Platinkomplexe als Lösungen, Feststoffe

oder Lyophilisate, gegebenenfalls unter Verwendung üblicher Hilfsstoffe bereitgestellt. Solche Hilfsstoffe sind beispielsweise Polysorbate, Glucose, Lactose, Mannitol, Dextrane, Zitronensäure, Tromethamol, Triethanolamin, Aminoessigsäure und/oder synthetische Polymere. Die applizierten Kom-
5 plexe reagieren dann mit Serumproteinen unter Bildung der Transportform.

Die Reaktion der neuen Platinkomplexe mit Serumproteinen kann alternativ auch extrakorporal durchgeführt werden, z.B. mit einer zur Infusion vor-
gesehenen Albumin-, Blut- oder Serummenge.

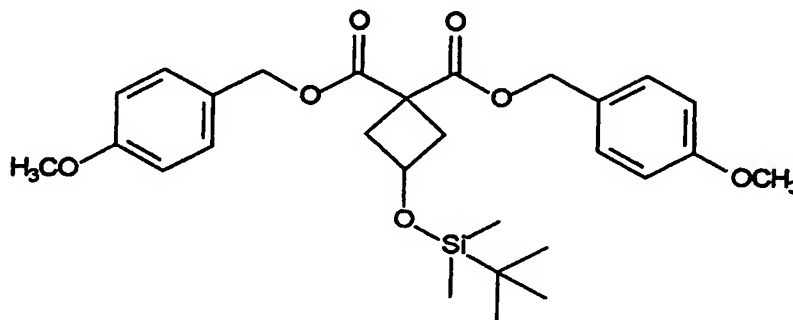
10

Protein-gebundene Platinkomplexe gemäß der Erfindung weisen gegenüber herkömmlichen niedermolekularen Komplexen eine veränderte Pharmakoki-
netik auf und reichern sich aufgrund ihres makromolekularen Charakters in Tumorgewebe an. Durch eine intrazellulär stattfindende Hydrolyse-Reaktion
15 wird der labil-gebundene Cyclobutan-1,1-dicarboxylatligand abgespalten und dabei werden Aquo-, Hydroxy- oder gemischte Aquohydroxykomplexe als aktive Komponenten freigesetzt. In Tierversuchsstudien zeigten diese proteinbindenden Platinkomplexe eine höhere Wirksamkeit als der klinische Standard Carboplatin (siehe Beispiel 10).

20

Die folgenden Beispiele erläutern die Erfindung in Verbindung mit der Zeich-
nung näher. Die Zeichnung stellt graphisch die Ergebnisse eines Tierversuchs mit einer Substanz gemäß Erfindung im Vergleich zu Carboplatin anhand der Änderung des Tumervolumens dar.

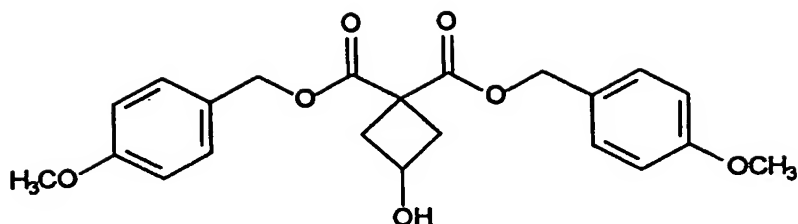
25

Beispiel 1**Herstellung von Bis(4-methoxybenzyl)-3-*tert.*-butyldimethyl-siloxycyclobutan-1,1-dicarboxylat (PMB-CB-OTBS)**

Zu einer Suspension von Kaliumhydrid (35 % in Mineralöl) (2.10 g, 18.29 mmol) in 20 mL wasserfreiem Dioxan wird unter Inertgasatmosphäre Bis(4-methoxybenzyl)malonat (6.00 g, 17.4 mmol) innerhalb 30 min zugegeben. Man lässt weitere 15 min bei Raumtemperatur rühren, versetzt mit 1,3-Dibrom-2-*tert.*-butyldimethylsiloxopropan (6.08 g, 18.29 mmol) und erhitzt über Nacht unter Rückfluss. Zu der auf Raumtemperatur abgekühlten Reaktionsmischung wird Kaliumhydrid (35 % in Mineralöl) (2.10 g, 18.29 mmol) als Suspension in 10 mL Dioxan langsam gegeben. Anschließend wird drei weitere Tage unter Rückfluss gerührt. Das gebildete Kaliumbromid wird über Celite abfiltriert, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (Kieselgel, Ethylacetat/Isohexan 1:10) gereinigt. Man erhält 2.78 g PMB-CB-OTBS (31 % d. Theorie) als farbloses Öl.

Beispiel 2**Herstellung von Bis(4-methoxybenzyl)-3-hydroxycyclobutan-1,1-dicarboxylat (PMB-CB-OH)**

5



10

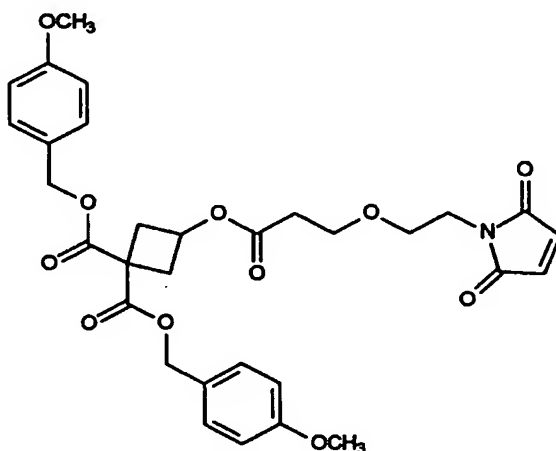
Eine Lösung von PMB-CB-OTBS (2.69 g, 5.23 mmol) in 25 mL wasserfreiem THF wird mit Tetrabutylammoniumfluorid (2.47 g, 7.85 mmol) versetzt und 15 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (Kieselgel, Ethylacetat/Isohexan 1:1) gereinigt. Man erhält 1.85 g PMB-CB-OH (88 % d. Theorie) als farbloses Öl, das langsam kristallisiert.

15

Beispiel 3

Herstellung von Bis(4-methoxybenzyl)-3-(6-maleinimido-4-oxacaproyl)cyclobutan-1,1-dicarboxylat (PMB-CB-1-Mal)

20



25

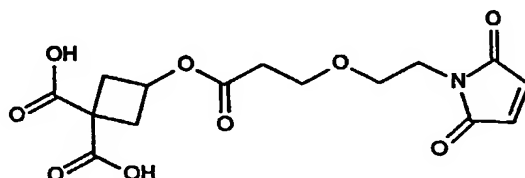
30

- 12 -

Eine Lösung von PMB-CB-OH (1.97 g, 4.91 mmol), 6-Maleinimido-4-oxacapro-
pronsäure (1.57 g, 7.37 mmol) und Triethylamin (2.04 mL, 8.64 mmol) in
30 mL wasserfreiem Dichlormethan wird mit 2-Chlor-1-methylpyridinium-
iodid (1.88 g, 7.37 mmol) versetzt und drei Stunden bei Raumtemperatur
5 gerührt. Man verdünnt mit 140 mL Dichlormethan, wäscht jeweils zweimal
mit 80 mL Salzsäure 1n, 80 mL Wasser sowie einmal mit 80 mL Natrium-
chloridlösung (ges.) und trocknet über Magnesiumsulfat. Anschließend wird
das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromato-
graphisch (Kieselgel, Chloroform/Methanol 200:1) gereinigt. Man erhält
10 2.89 g PMB-CB-1-Mal (99 % d. Theorie) als farbloses Öl.

Beispiel 4

Herstellung von 3-(6-Maleinimido-4-oxacaproyl)cyclobutan-1,1-di-carbon-
säure (COOH-CB-1-Mal)

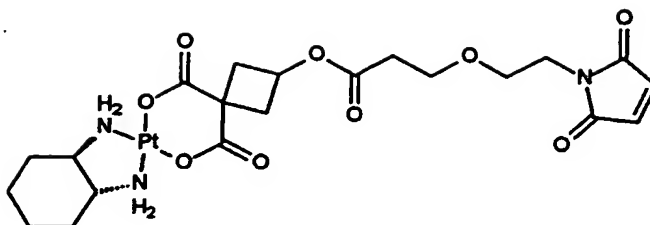


20

Eine Lösung von PMB-CB-1-Mal (2.76 g, 4.63 mmol) und Anisol (7.57 mL,
69.5 mmol) in 50 mL wasserfreiem Dichlormethan wird bei 0 °C mit 10 mL
Trifluoressigsäure versetzt und zwei Stunden bei 0 °C gerührt. An-
25 schließend wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand
säulenchromatographisch (Kieselgel, Chloroform/Methanol 20:1) gereinigt.
Man erhält 1.28 g COOH-CB-1-Mal (78 % d. Theorie) als farblosen Sirup.

Beispiel 5

30 Herstellung von *trans*-(*R,R/S,S*)-Cyclohexan-1,2-diaminoplatin(II)-
[3-(6-maleinimido-4-oxacaproyl)cyclobutan-1,1-dicarboxylat]
(DACH-Pt-CB-1-Mal)



10 Zu einer auf Raumtemperatur abgekühlten wässrigen Lösung von [Pt *trans*-DACH](NO₃)₂ (300 mg, 692 μmol), die man durch Erhitzen (50 °C) des Platinkomplexes mit 60 mL Wasser erhält, wird eine Lösung von COOH-CB-1-Mal (271 mg, 762 μmol) in 5 mL Wasser gegeben. Die Reaktionsmischung wird mit 0.1 M KOH auf pH 5.5 eingestellt und drei Stunden bei Raumtemperatur in der Dunkelheit gerührt. Anschließend wird das

15 Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand durch Säulenchromatographie (Kieselgel, Ethanol) gereinigt. Man erhält 291 mg DACH-Pt-CB-1-Mal (61 % d. Theorie) als farblosen Feststoff.

¹H-NMR (CD₃OD):

20 δ = 0.97-1.29 (m, 4H, Cyclohexyl-H), 1.38-1.56 (m, 2H, Cyclohexyl-H), 1.81-1.96 (m, 2H, Cyclohexyl-H), 2.19-2.36 (m, 2H, Cyclohexyl-H), 2.42 (t, J = 5.9 Hz, CH₂COO), 2.60-2.79 (m, 2H, CH₂CHOR), 3.27-3.41 (m, 2H, CH₂CHOR), 3.46-3.66 (m, 6H, NCH₂, OCH₂), 4.67-4.86 (m, 1H, CHOR), 6.76 (s, 2H, C(O)CH=CHCO)

25

¹³C-NMR (CD₃OD):

δ = 25.51, 33.30 (Cyclohexyl), 35.92 (CH₂COO), 38.17 (NCH₂), 39.80/40.09 (CH₂CHOR), 51.35 (C(COOH)₂), 63.81/63.86 (Cyclohexyl-NH₂), 65.66 (CHOR), 67.22, 68.65 (OCH₂), 135.50 (C(O)CH=CHCO), 172.52, 172.80 (C(O)CH=CHCO, CH₂COO), 180.41, 180.61 (C(COOH)₂)

30

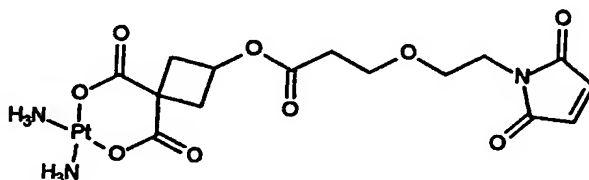
- 14 -

ESI-MS (4.0 kV, MeOH):

m/z (%) 663.0 ([M + 1]⁺, 100)**Beispiel 6**

- 5 **Herstellung von Diamminplatin(II)-[3-(6-maleinimido-4-oxacaproyl)cyclobutan-1,1-dicarboxylat] ((NH₃)₂-Pt-CB-1-Mal)**

10

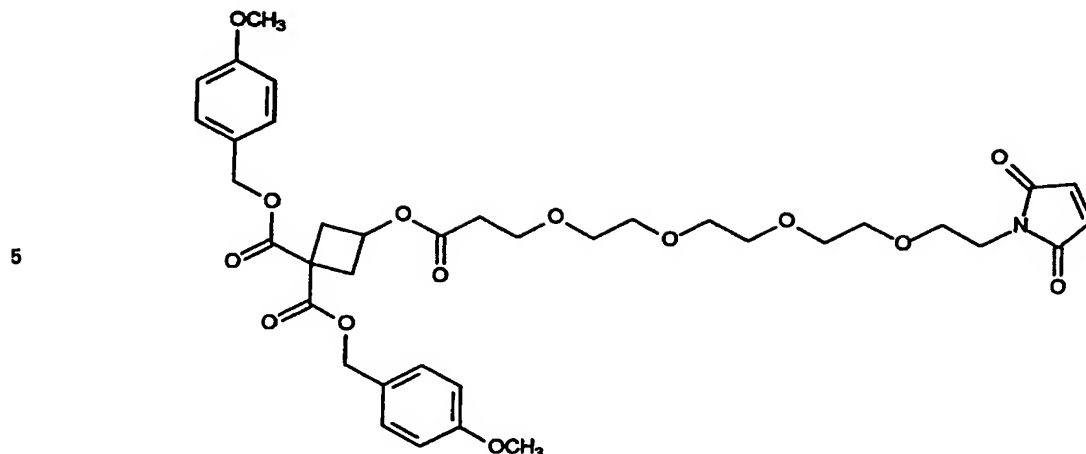


- 15 Zu einer auf Raumtemperatur abgekühlten wässrigen Lösung von [(NH₃)₂Pt](NO₃)₂ (485 mg, 1.37 mmol), die man durch Erhitzen (50 °C) des Platinkomplexes mit 90 mL Wasser erhält, wird eine Lösung von COOH-CB-1-Mal (538 mg, 1.51 mmol) in 5 mL Wasser gegeben. Die Reaktionsmischung wird mit 0.1 M KOH auf pH 5.5 eingestellt und drei
- 20 Stunden bei Raumtemperatur in der Dunkelheit gerührt. Anschließend wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand durch Säulenchromatographie (Kieselgel, Ethanol) gereinigt. Man erhält 263 mg (NH₃)₂-Pt-CB-1-Mal (33 % d. Theorie) als farblosen Feststoff.

- 25 ESI-MS:

m/z (%) 581.8 ([M]⁺, 100)**Beispiel 7**

- 30 **Herstellung von Bis(4-methoxybenzyl)-3-(15-maleinimido-4,7,10,13-tetroxapentadecanoyl)cyclobutan-1,1-dicarboxylat (PMB-CB-4-Mal)**



10 Eine Lösung von PMB-CB-OH (1.154 g, 2.881 mmol), 15-Maleinimido-4,7,10,13-tetroxapentadecansäure (1.49 g, 4.32 mmol) und Triethylamin (1.20 mL, 8.64 mmol) in 20 mL wasserfreiem Dichlormethan wird mit 2-Chlor-1-methylpyridiniumiodid (1.10 g, 4.32 mmol) versetzt und drei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Man verdünnt mit 80 mL Dichlormethan, wäscht jeweils zweimal mit 50 mL Salzsäure 1n, 50 mL Wasser sowie einmal mit 50 mL Natriumchloridlösung (ges.) und trocknet über Magnesiumsulfat. Anschließend wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (Kieselgel, Ethylacetat) gereinigt. Man erhält 1.93 g PMB-CB-4-Mal (92 % d. Theorie) als farbloses Öl.

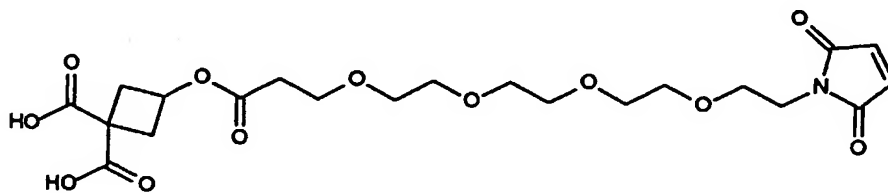
15

20

Beispiel 8

Herstellung von 3-(15-Maleinimido-4,7,10,13-tetroxapentadecanoyl)cyclobutan-1,1-dicarbonsäure (COOH-CB-4-Mal)

25



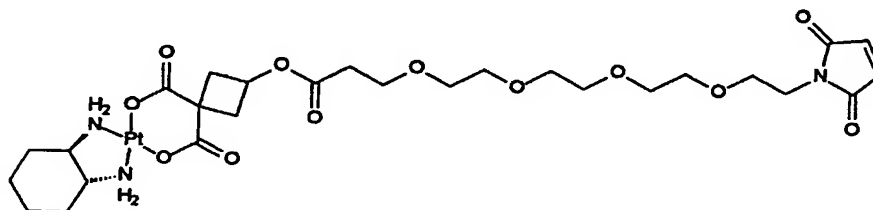
Eine Lösung von PMB-CB-4-Mal (1.94 g, 2.66 mmol) und Anisol (4.35 mL, 39.9 mmol) in 50 mL wasserfreiem Dichlormethan wird bei 0 °C mit 10 mL Trifluoressigsäure versetzt und zwei Stunden bei 0 °C gerührt. Anschließend wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (Kieselgel, Chloroform/Methanol 10:1) gereinigt. Man erhält 1.15 g COOH-CB-4-Mal (89 % d. Theorie) als farblosen Sirup.

Beispiel 9

Herstellung von *trans*-(*R,R/S,S*)-Cyclohexan-1,2-diaminoplatin(II)-[3-

(15-maleinimido-4,7,10,13-tetroxapentadecanoyl)cyclo-butan-1,1-dicarboxylat]

(DACH-Pt-CB-4-Mal)



Zu einer auf Raumtemperatur abgekühlten wässrigen Lösung von [Pt *trans*-DACH](NO₃)₂ (175 mg, 405 μmol), die man durch Erhitzen (50 °C) des Platinkomplexes mit 30 mL Wasser erhält, wird eine Lösung von COOH-CB-4-Mal (217 mg, 445 μmol) in 5 mL Wasser gegeben. Die Reaktionsmischung wird mit 0.1 M KOH auf pH 5.5 eingestellt und drei Stunden bei Raumtemperatur in der Dunkelheit gerührt. Anschließend engt man im Vakuum auf ca. 5 mL ein und zentrifugiert den Niederschlag ab. Der Überstand wird durch präparative HPLC (Nucleosil® 100-7-C18-Säule (250 x 15 mm), Wasser/Acetonitril 80:20 + 0.05 % TFA, Fluss: 20 mL/min, Retentionszeit: ca. 20 min) gereinigt. Nach Entfernen des Laufmittels im Vakuum und Kristallisation des Rückstandes durch Zugabe von ca. 1 mL 2-Propanol

erhält man 60 mg DACH-Pt-CB-4-Mal (19 % d. Theorie) als farblosen Feststoff.

$^1\text{H-NMR}$ (D_2O , geeicht auf Aceton $\delta \equiv 2.20$ ppm):

5 $\delta =$ 0.98-1.35 (m, 4H, Cyclohexyl-H), 1.44-1.62 (m, 2H, Cyclohexyl-H), 1.94-2.06 (m, 2H, Cyclohexyl-H), 2.28-2.48 (m, 2H, Cyclohexyl-H), 2.66 (t, $J = 6.0$ Hz, CH_2COO), 2.80-2.93 (m, 2H, CH_2CHOR), 3.34-3.50 (m, 2H, CH_2CHOR), 3.54-3.84 (m, 18H, NCH_2 , OCH_2), 4.93 ('p', $J = 7.1$ Hz, 1H, CHOR), 6.85 (s, 2H, $\text{C(O)CH}=\text{CHCO}$)

10

$^{13}\text{C-NMR}$ (D_2O , geeicht auf Aceton):

15 $\delta =$ 24.30, 32.22 (Cyclohexyl), 34.91 (CH_2COO), 37.37 (NCH_2), 38.54/38.72 (CH_2CHOR), 50.71 ($\text{C}(\text{COOH})_2$), 63.05/63.09 (Cyclohexyl- NH_2), 65.37 (CHOR), 66.52, 68.02, 69.73, 69.97, 70.01 (OCH_2), 134.86 ($\text{C(O)CH}=\text{CHCO}$), 173.39, 174.11 ($\text{C(O)CH}=\text{CHCO}$, CH_2CCOO), 180.30, 180.47 ($\text{C}(\text{COOH})_2$)

20

$^{195}\text{Pt-NMR}$ (D_2O): $\delta =$ -311

IR (KBr): $\nu =$ 3448 (ss, b), 2934 (w, b), 1709 (ss), 1627 (s), 1353 (m), 1094 (ss, b), 696 (w) cm^{-1}

25

ESI-MS (4.0 kV, MeOH): m/z (%) 816.9 ($[\text{M} + \text{Na}]^+$, 100)

$\text{C}_{27}\text{H}_{41}\text{N}_3\text{O}_{12}\text{Pt}$ [794.71]

Elementaranalyse:	berechnet:	C: 40.81 %	H: 5.20 %	N: 5.29 %
	gefunden:	C: 39.88 %	H: 5.16 %	N: 5.08 %

30

Beispiel 10

Wirksamkeit von DACH-Pt-CB-1-Mal *in vivo*

Die in Abbildung 1 aufgeführten biologischen Daten verdeutlichen eine erhöhte in-vivo-Wirksamkeit von DACH-Pt-CB-1-Mal im Vergleich zu Carboplatin.

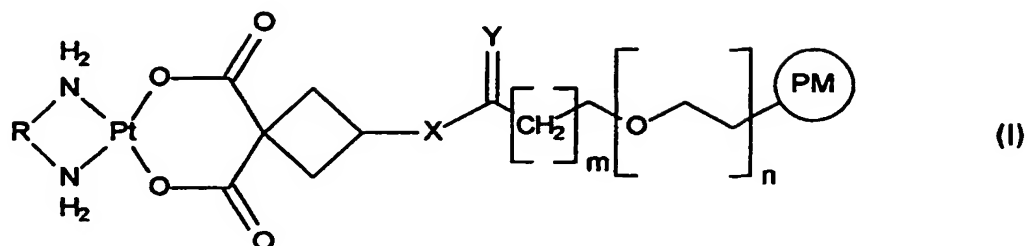
- 5 **Tiere:** Nacktmäuse **Tumormodell:** MaTu (Mammakarzinom)
 Therapie: DACH-Pt-CB-1-Mal (75 und 100 mg/kg) sowie Carboplatin (100 mg/kg) einmalig an Tag 7, Carboplatin (75 mg/kg) jeweils an den Tagen 7 und 14; i.v. (Carboplatin und Derivate in jeweils 0.15 0.3 mL Glucose-Phosphat-Puffer pH 6.5).

Ansprüche

1. Platinkomplex der allgemeinen Formel I:

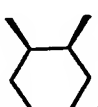
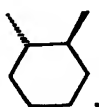
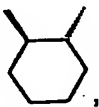
5

10



worin

15

R = 2 H, , , , $-(CH_2)_i-$ (i = 2 oder 3);

X = O oder NH;

Y = O, S oder 2 H;

m = 0 bis 5;

20

n = 0 bis 6;

PM eine Proteinbindende Gruppe bedeutet.

2. Platinkomplex gemäß Anspruch 1,

d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t ,

25

dass PM eine Maleinimidgruppe, eine 2-Dithiopyridylgruppe, eine Halogenacetamidgruppe, eine Halogenacetatgruppe, eine Disulfidgruppe, eine Acrylsäureestergruppe, eine Monoalkylmaleinsäureestergruppe, eine Monoalkylmaleaminsäureamidgruppe, eine N-Hydroxysuccinimidylestergruppe, eine Isothiocyanatgruppe oder eine Aziridingruppe ist, die gegebenenfalls substituiert sein können.

30

3. Platinkomplex nach Anspruch 2,

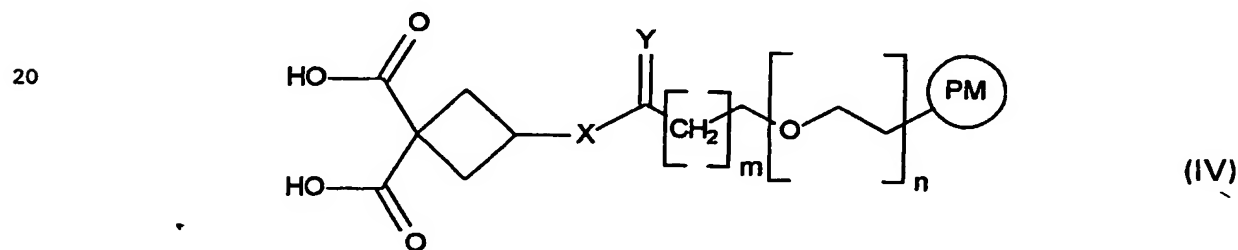
- 20 -

dadurch gekennzeichnet,
dass PM eine Maleinimidgruppe ist, die gegebenenfalls substituiert
sein kann.

5 4. Platinkomplex gemäß Anspruch 3,
dadurch gekennzeichnet,
dass $m < 2$ und $n = 1$ bis 4 ist.

10 5. Platinkomplex nach Anspruch 4,
dadurch gekennzeichnet,
dass $X = O$ und $Y = O$ ist.

15 6. Verfahren zur Herstellung von Platinkomplexen nach einem der
vorhergehenden Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet,
dass ein Cyclobutan-1,1-dicarbonsäure-Derivat der allgemeinen
Formel IV



25

in der

$X = O$ oder NH

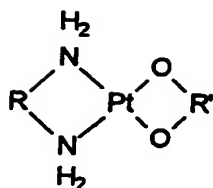
$Y = O, S$ oder $2 H$

$m = 0$ bis 5

30

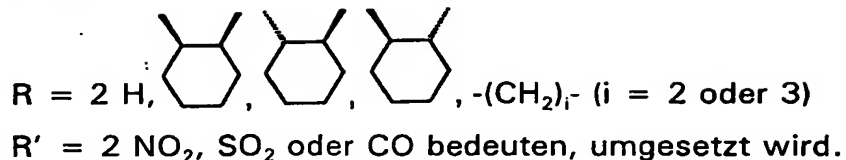
$n = 0$ bis 6

und PM eine Proteinbindende Gruppe bedeuten, mit einem Platin-
komplex der allgemeinen Formel V



(V)

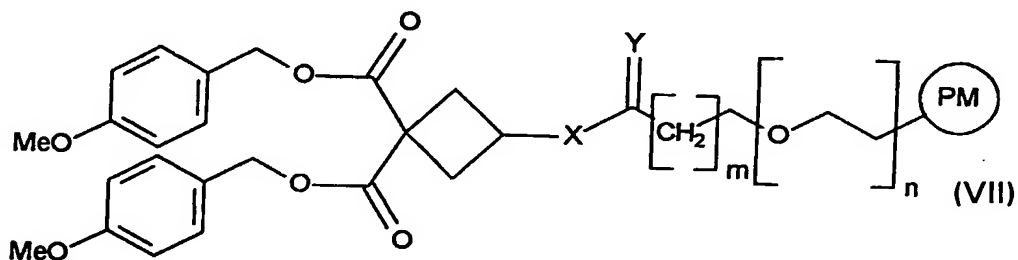
in der



10

7. Verfahren nach Anspruch 6,
 dadurch gekennzeichnet,
 dass das Cyclobutan-1,1-dicarbonsäure-Derivat der allgemeinen
 Formel II durch Umsetzung eines 4-Methoxybenzyl-geschützten Cy-
 clobutan-1,1-dicarbonsäure-Derivats der allgemeinen Formel VII

15



20

in der

25

$X = \text{O oder NH}$

$Y = \text{O, S oder 2 H}$

$m = 0 \text{ bis } 5$

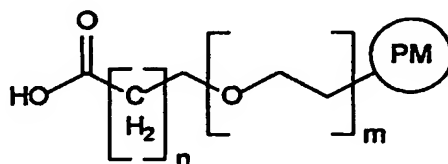
$n = 0 \text{ bis } 6$

und PM eine Proteinbindende Gruppe bedeuten, mit Trifluoressig-
 säure und Anisol erhalten wird.

30

8. Verfahren nach Anspruch 7,

dadurch gekennzeichnet,
 dass das Cyclobutan-1,1-dicarbonsäure-Derivat der allgemeinen
 Formel VII durch Umsetzung von Bis(4-methoxybenzyl)-3-hydroxy-
 cyclobutan-1,1-dicarboxylat mit einem heterobifunktionellen Cross-
 linker der allgemeinen Formel VI



(VI)

in der

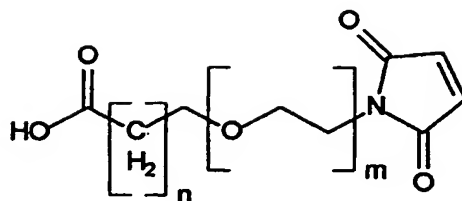
$n = 0, 1$

$m = 1 \text{ bis } 6$

und PM eine Proteinbindende Gruppe bedeuten, in Gegenwart von
 Carbonsäure-Aktivierungsreagenzien erhalten wird.

9. Verfahren nach Anspruch 8,
 dadurch gekennzeichnet,
 dass als Carbonsäure-Aktivierungsreagenzien *N,N'*-Dicyclohexylcar-
 bodiimid, *N,N'*-Diisopropylcarbodiimid oder (Benzo-
 triazol-1-yloxy)tris(dimethylamino)phosphonium-Hexafluoro-phos-
 phat, am meisten bevorzugt 2-Chlor-1-methylpyridiniumiodid ver-
 wendet werden.

10. Verfahren gemäß Anspruch 8 oder 9,
 dadurch gekennzeichnet,
 dass man Bis(4-methoxybenzyl)-3-hydroxycyclobutan-1,1-dicarboxy-
 lat mit einer Maleinimidocarbonsäure der allgemeinen Formel VIa



(VIa)

in der

$n = 0, 1$

$m = 1$ bis 6

bedeuten, unter Einsatz von 2-Chlor-1-methylpyridiniumiodid umgesetzt.

10

11. Verfahren nach Anspruch 8,
dadurch gekennzeichnet,
dass Bis(4-methoxybenzyl)-3-hydroxycyclobutan-1,1-dicarboxylat
durch Umsetzung von Bis(4-methoxybenzyl)-3-*tert.*-butyl-
dimethylsiloxycyclobutan-1,1-di-carboxylat mit Tetrabutyl-
ammoniumfluorid erhalten wird.

15

12. Verfahren nach Anspruch 11,
dadurch gekennzeichnet,
dass Bis(4-methoxybenzyl)-3-*tert.*-butyldimethylsiloxycyclo-bu-
tan-1,1-di-carboxylat durch Umsetzung von Bis(4-methoxyben-
zyl)malonat mit 1,3-Dibrom-2-*tert.*-butyldimethyl-siloxypropan erhal-
ten wird.

20

25

13. Arzneimittel enthaltend als Wirkstoff einen Platinkomplex gemäß
einem der Ansprüche 1 bis 5, gegebenenfalls zusammen mit übli-
chen Hilfsstoffen und/oder pharmazeutischen Lösungsmitteln.

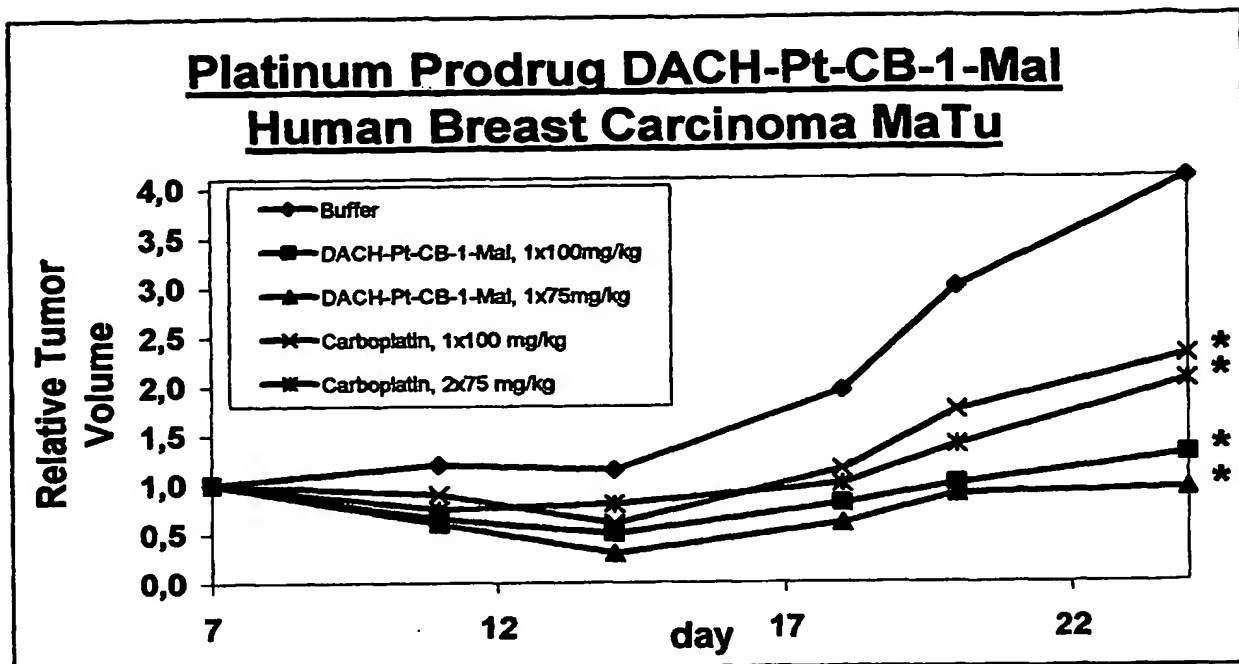
14. Verwendung eines Platinkomplexes nach einem der Ansprüche 1 bis
5 zur Behandlung von Krebskrankheiten.

30

15. Verfahren zur Herstellung eines Arzneimittels für die Behandlung von Krebskrankheiten,
dadurch gekennzeichnet,
dass man eine Verbindung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 5 in
5 eine therapeutisch annehmbare Lösung überführt.

Abbildung 1

1/1



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP2004/002850

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 C07F15/00 A61K31/282 A61P35/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 C07F A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, CHEM ABS Data, INSPEC

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	PASHKOVSKII F.S., KHEBNIKOVA T.S., LAKHVICH F.A.: "GENERAL APPROACH TO SYNTHESIS OF CARBOPLATIN ANALOG CONTAINING FRAGMENTS OF CARBOXYLIC FATTY ACIDS IN ACID LIGAND" BELARUSKAYA NAVUKA, vol. 46, no. 4, 2002, pages 63-65, XP009033021 page 64; example 9	1-15
Y	US 5 011 959 A (KHOKHAR ABDUL R) 30 April 1991 (1991-04-30) column 2, line 1 - column 3, line 55; claim 12; example 5; table 5 ----- -/-	1-15

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- * & * document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

1 July 2004

Date of mailing of the international search report

09/07/2004

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Papathoma, S

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP2004/002850

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>BOECKLER C ET AL: "Immunogenicity of new heterobifunctional cross-linking reagents used in the conjugation of synthetic peptides to liposomes" JOURNAL OF IMMUNOLOGICAL METHODS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS B.V.,AMSTERDAM, NL, vol. 191, no. 1, 10 May 1996 (1996-05-10), pages 1-10, XP004020848 ISSN: 0022-1759 paragraphs '02.4!, '0003!, '0004!; table 1</p>	1-15
A	<p>LEBWOHL D ET AL: "Clinical development of platinum complexes in cancer therapy: an historical perspective and an update" EUROPEAN JOURNAL OF CANCER, PERGAMON PRESS, OXFORD, GB, vol. 34, no. 10, September 1998 (1998-09), pages 1522-1534, XP004285042 ISSN: 0959-8049 the whole document</p>	1-15

PCT/EP2004/002850

PCT Rule 39.1(iv) – methods for treatment of the human or animal body by therapy.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP2004/002850

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5011959	A	30-04-1991	AT 71630 T	15-02-1992
			AU 8335987 A	16-06-1988
			DE 3776154 D1	27-02-1992
			EP 0333756 A1	27-09-1989
			JP 2500745 T	15-03-1990
			WO 8803925 A1	02-06-1988
			US 5132323 A	21-07-1992

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

ationales Aktenzeichen
PCT/EP2004/002850

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 C07F15/00 A61K31/282 A61P35/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C07F A61K A61P

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, CHEM ABS Data, INSPEC

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	PASHKOVSKII F.S., KHLEBNIKOVA T.S., LAKHVICH F.A.: "GENERAL APPROACH TO SYNTHESIS OF CARBOPLATIN ANALOG CONTAINING FRAGMENTS OF CARBOXYLIC FATTY ACIDS IN ACID LIGAND" BELARUSKAYA NAVUKA, Bd. 46, Nr. 4, 2002, Seiten 63-65, XP009033021 Seite 64; Beispiel 9	1-15
Y	US 5 011 959 A (KHOKHAR ABDUL R) 30. April 1991 (1991-04-30) Spalte 2, Zeile 1 - Spalte 3, Zeile 55; Anspruch 12; Beispiel 5; Tabelle 5 ----- -/--	1-15



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E Älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

G Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

1. Juli 2004

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

09/07/2004

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Papathoma, S

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	<p>BOECKLER C ET AL: "Immunogenicity of new heterobifunctional cross-linking reagents used in the conjugation of synthetic peptides to liposomes"</p> <p>JOURNAL OF IMMUNOLOGICAL METHODS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS B.V.,AMSTERDAM, NL, Bd. 191, Nr. 1, 10. Mai 1996 (1996-05-10), Seiten 1-10, XP004020848</p> <p>ISSN: 0022-1759</p> <p>Absätze '02.4!', '0003!', '0004!; Tabelle 1</p> <p>-----</p>	1-15
A	<p>LEBWOHL D ET AL: "Clinical development of platinum complexes in cancer therapy: an historical perspective and an update"</p> <p>EUROPEAN JOURNAL OF CANCER, PERGAMON PRESS, OXFORD, GB, Bd. 34, Nr. 10, September 1998 (1998-09), Seiten 1522-1534, XP004285042</p> <p>ISSN: 0959-8049</p> <p>das ganze Dokument</p> <p>-----</p>	1-15

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2004/002850

Feld II Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. ☒ Ansprüche Nr. 14
weil sie sich auf Gegenstände beziehen; zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
Regel 39.1(iv) PCT – Verfahren zur therapeutischen Behandlung des menschlichen oder tierischen Körpers
2. ☐ Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
3. ☐ Ansprüche Nr.
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld III Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese Internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. ☐ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. ☐ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- ☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
☐ Die Zahlung zusätzlicher Recherchegebühren erfolgte ohne Widerspruch.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2004/002850

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 5011959 A	30-04-1991	AT 71630 T	15-02-1992
		AU 8335987 A	16-06-1988
		DE 3776154 D1	27-02-1992
		EP 0333756 A1	27-09-1989
		JP 2500745 T	15-03-1990
		WO 8803925 A1	02-06-1988
		US 5132323 A	21-07-1992